Gilles MARODON

CNRS UMR 7087

Biologie et thérapeutique des pathologies immunitaires

Hôpital La Pitié-Salpêtrière, PARIS

Les déficits immunitaires

1. Généralités

2. Les déficits immunitaires primaires
    1. Immunité acquise
    2. Immunité innée

3. Les déficits immunitaires secondaires

4. Les modèles animaux

5. La thérapie génique

6. Conclusions

Généralités (1)

- Condition causée par un ou plusieurs défauts du système immunitaire caractérisée cliniquement par <u>une susceptibilité accrue aux infections</u> avec pour conséquence une maladie sévère, aiguë, récurrente ou chronique

- Les déficits immunitaires peuvent être primaires ou secondaires (innés ou acquis)

Généralités (2)

- Déficits immunitaires primaires:
  - d'origine génétique
  - touchent plus particulièrement les jeunes garçons
  - incidence variée
  - plus de 70 répertoriés
- Quatre groupes principaux (WHO, 1997)
  - Cellules B (50%)
  - Cellules T (30%) --> SCID
  - Cellules phagocytaires (18%)
  - Cascade du complément (2%)

Généralités (3)

Les déficits immunitaires secondaires

- Se développent chez des personnes ayant un système immunitaire auparavant intact
- Résultats de facteurs externes (infections, chirurgie, malnutrition, drogues, etc) ou de maladies (ex: cancer)
- Susceptibilité accrue aux infections bactériennes et virales
- Beaucoup plus communs que les primaires (ex: patients hospitalisés)
- Souvent réversibles

Généralités (4)

Les déficits immunitaires secondaires

- Prématurés et nouveaux-nés
- Malnutrition
- Immunosuppresseurs physiques et chimiques
- Infections
- Maladies héréditaires et métaboliques
- Anomalies hématologiques malignes
- Chirurgie
- Divers (drogues, vieillissement,…)

Généralités (5)
Un peu de Médecine…

- Signes cliniques
  - Infections respiratoires récurrentes avec complications
  - Infections de la peau et des muqueuses
  - Diarrhées, problème de croissance
  - Moins courant: auto-immunité (anémie hémolytique, vascularite, arthrite, endocrinopathies)
- Histoire familiale et âge
- Signes physiques
- Tests biologiques
  - Comptages (anémies, thrombocytopénie, lymphopénie, neutropénie, leucocytose)
  - Dosage des immunoglobulines sériques (ex: déficit en cellules B si <200 $mgdL^{-1}$)
  - Tests pour un déficit en lymphocytes T (ex: détection de la présence d'un thymus par échographie)
  - Tests pour un déficit en phagocytes (ex: test de réduction d'un colorant pour la maladie granulomateuse chronique)
  - Test pour le déficit en complément (ex: niveaux sériques de C3 et C4)

Généralités (6)
Un peu de Médecine…

- Infections opportunistes
  - Phagocytes
    - Bactéries (*S. Aureus*)
    - Champignons (*Candida, Aspergillus*)
  - Cellules B
    - Bactéries (Gram-positive et négative, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*)
    - Virus (coxsackie, adenovirus)
    - Parasites (*Giardia*)
  - Cellules T
    - Bactéries + champignons + parasites
    - Virus Herpes simplex virus, cytomegalovirus, Varicella-zoster virus, Epstein-Barr virus
    - Protozoaires (*Pneumocyste carinii, Crytosporidium*)

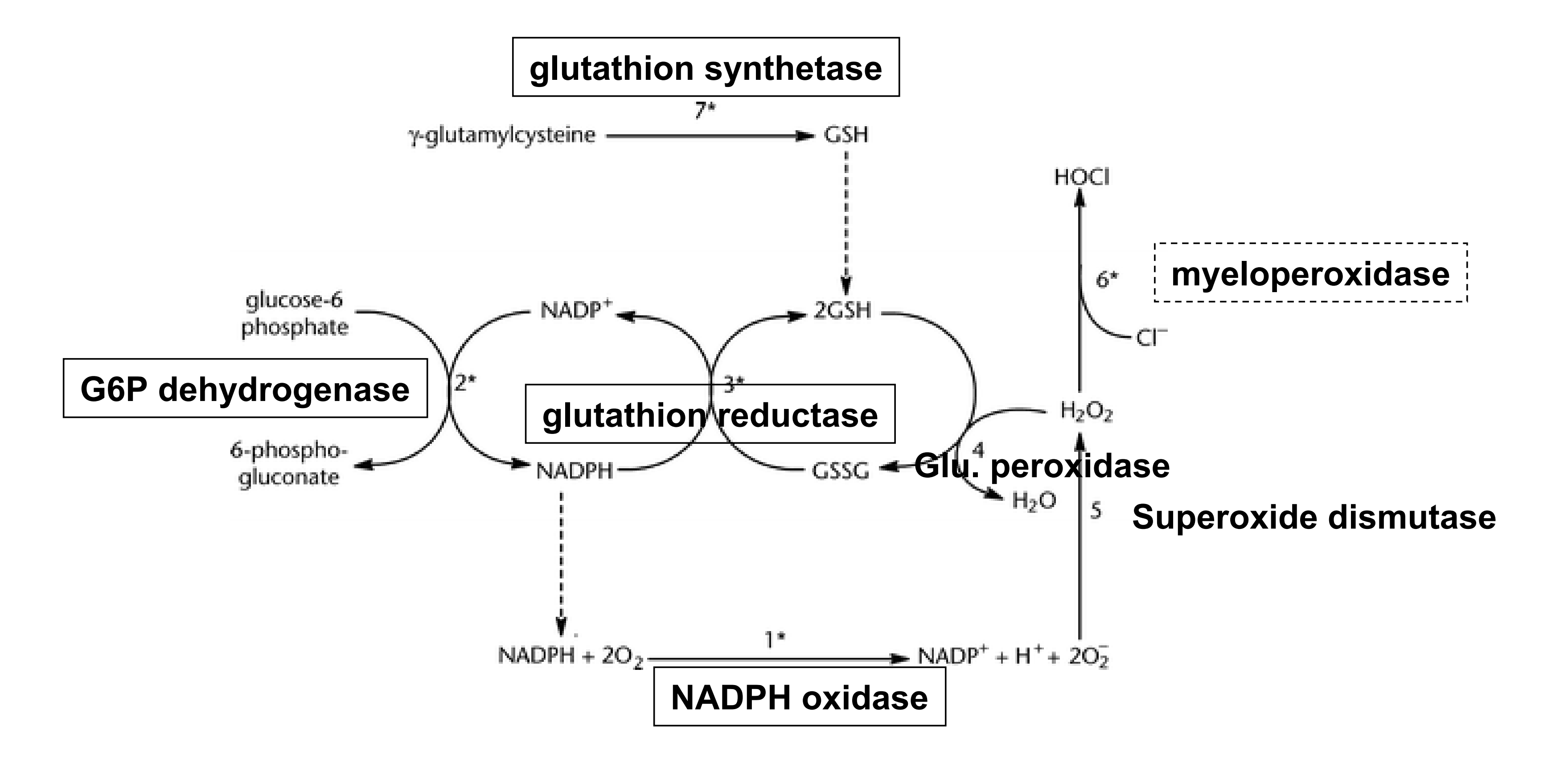
Généralités (7)

- Traitements
  - Prophylactique
    - Hygiène
    - Antibiotiques
  - Thérapeutique
    - Immunoglobuline intraveineuse
    - Enzyme de substitution (ADA)
    - Greffe de moelle osseuse allogénique
    - Thérapie génique

Les déficits primaires du système immunitaire inné (1)

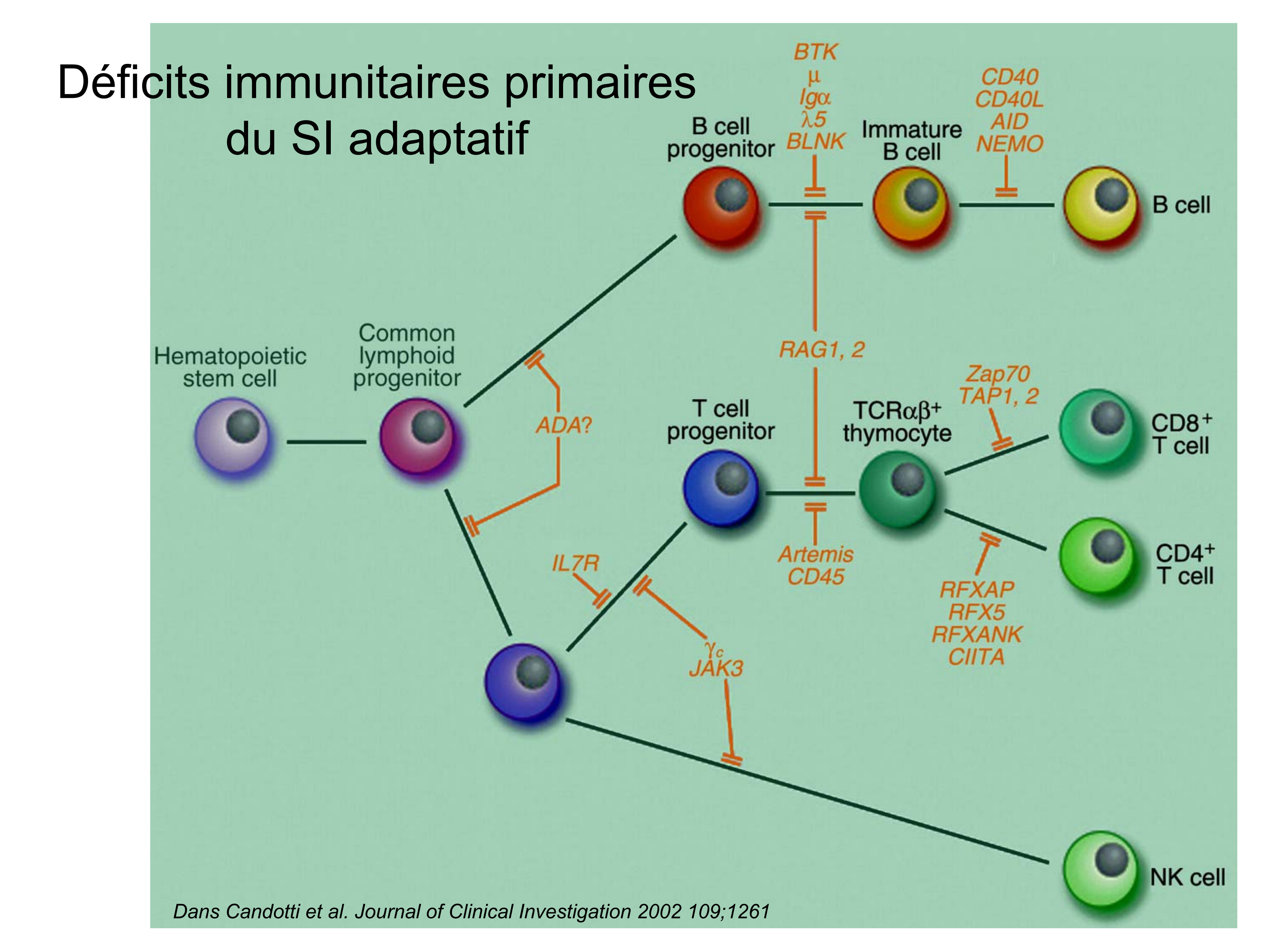
- Cellules NK --> qq cas rares --> susceptibilité accrue aux infections virales
- Phagocytes
  - Défaut des molécules d'adhésion
    - LAD-I --> CD18
    - LAD-II --> sialyl Lewis X
  - Syndrome de Chédiak-Higashi --> défaut dans la compartimentation des proteines lysosomales et granulaires
  - Maladie chronique granulomateuse --> CGD
    - très rare 1/250.000 mais très bien étudiée
    - déficit en NAPDH oxidase --> défaut de synthèse de superoxide nécessaire à la synthèse de radicaux libres à activité anti-microbienne (e.g H_2O_2)
    - Granulomes--> neutrophiles « encerclant » les microbes
  - Déficit en GP6D
    - diminution de la synthèse de NADPH
    - affecte principalement les érythrocytes
  - Défaut dans le métabolisme du glutathion (protège les phagocytes des effets de H_2O_2)
    - Déficit en glutathion reductase
    - Déficit en glutathion synthetase
  - Déficit en myeloperoxidase (responsable de la couleur verte du pus)
    - Très fréquente 1/4000 mais asymptomatique ds la plupart des cas (⮟ *Candida*)

La voie oxydative du NADP



Les déficits primaires du système immunitaire inné (2)

- Les déficits dans la cascade du complément
  - Déficit génétiques de la voie classique
    - C1q --> phénotype hétérogène --> mutations?
    - C1r, C1s --> 20 cas rapportés
    - C2 --> le + commun mais asymptomatique (50%)
    - C4 --> deux gènes C4A et C4B --> très rare
    - Lupus érythémateux, glomérulonéphrite
  - Déficit de la voie alterne
    - Properdine et Facteur D --> moins de 10 cas
  - Déficit en C3 --> rare mais souvent fatal (susceptibilité accrue aux infections bactériennes)


Déficits immunitaires primaires
du SI adaptatif
B cell progenitor
BTK
μ
Igα
λ5
BLNK
Immature B cell
CD40
CD40L
AID
NEMO
B cell
Hematopoietic stem cell
Common lymphoid progenitor
ADA?
RAG1, 2
T cell progenitor
TCRαβ+ thymocyte
Zap70
TAP1, 2
CD8+ T cell
CD4+ T cell
Artemis
CD45
RFXAP
RFX5
RFXANK
CIITA
IL7R
γc
JAK3
NK cell
Dans Candotti et al. Journal of Clinical Investigation 2002 109;1261

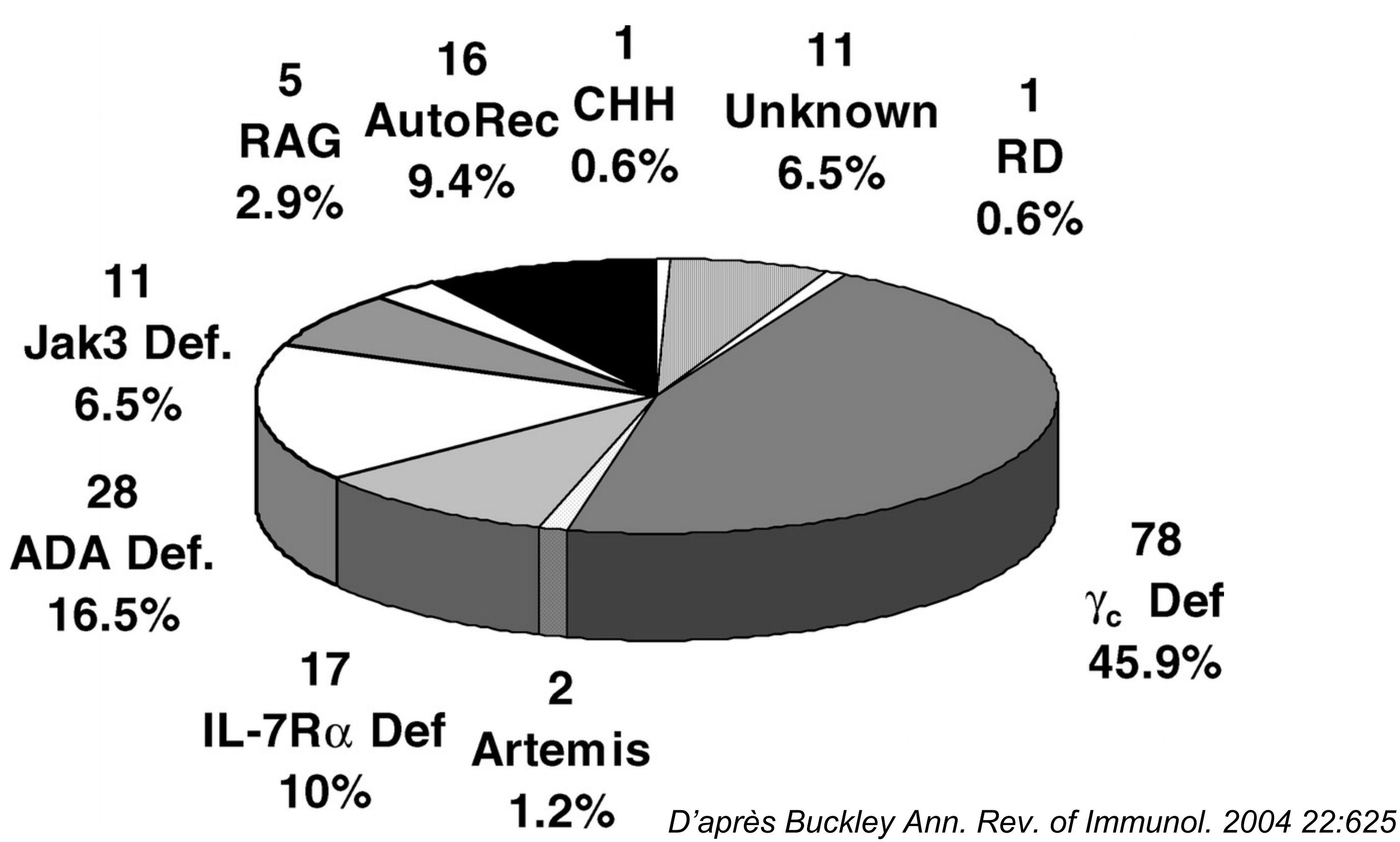
Les déficits primaires du système immunitaire adaptatif (1)

- Cellules B
  - Agammaglobulémie
    - lié à l'X (BTK)
    - Igα, λ5, μ–chain
  - Syndrome hyper-IgM (CD40L)
  - Déficit immunitaire variable commun (pas de lésions génétiques évidentes)

Les déficits primaires du système immunitaire adaptatif (2)

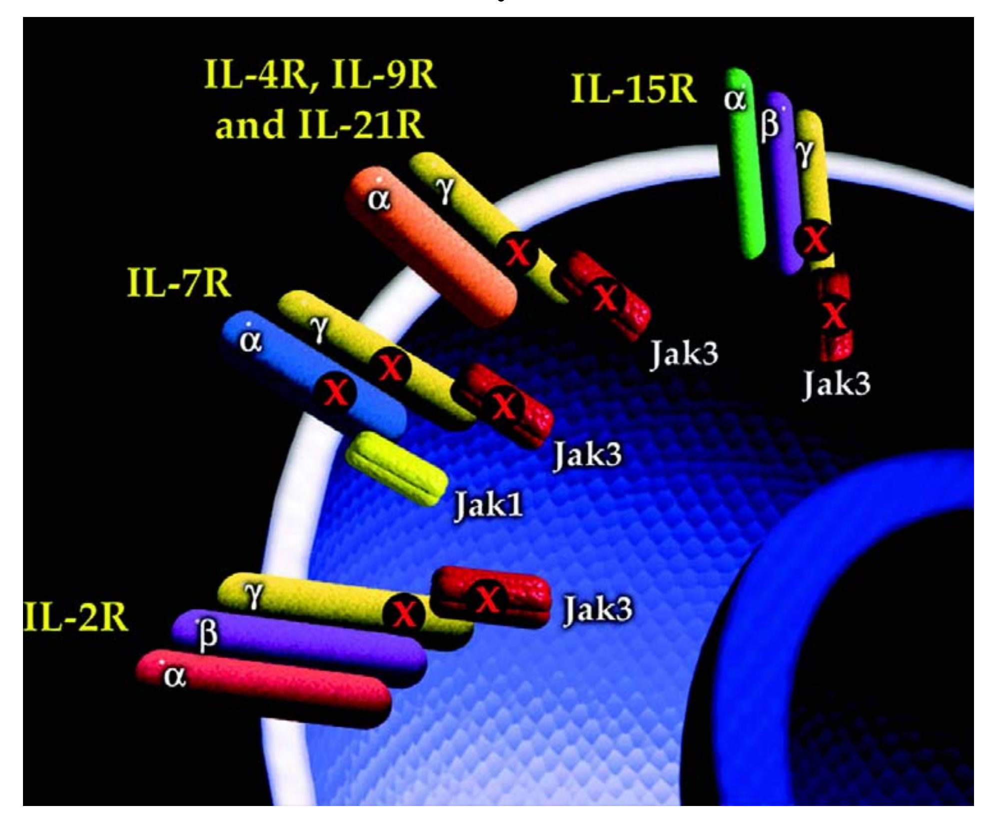
- Cellules T --> déficits immunitaires combinés sévères (SCID) 1/75.000 à 1/100.000 naissances
  - SCID T^-B^-
    - ADA, RAG-1, RAG-2 --> blocage précoce de la différentiation des cellules B et T
  - SCID T^-B^+
    - IL-7R, γc, Jak-3 --> blocage précoce de la différentiation des cellules T dans le thymus (effet direct)
    - ZAP-70, CD3ζ, CD3ε ––> blocage tardif dans le thymus (effet direct)
    - CMH classe I (Tap1, Tap2) et CMH classe II (RFXAP, CIITA, RFX5, RFXANK) --> blocage de la différentiation tardive des cellules T (effet indirect)

Les SCID: distribution (3)



D'après Buckley Ann. Rev. of Immunol. 2004 22:625

Le récepteur γc et Jak3 (4)



Ex: X-SCID --> Plus de 150 mutations ≠ ds γc

D'après Buckley Ann. Rev. of Immunol. 2004 22:625

Table 1
Defects leading to primary immune deficiency

Class of defect	Gene	Disease
Disorders of cytokines and cytokine signaling	γ_c, Jak3, IL-7R	T^-B^+ SCID
	IL-2Rα	Lymphoproliferative disease
	IFN-γR1, IFN-γR2, IL-12p40, IL-12Rβ1, Stat1	Atypical mycobacterial infection
	TNFR1	TRAPS
	Fas, caspase-10	ALPS
	CD40, CD40L, AID	HIGM
	IKKγ	Hypohidrotic ectodermal dysplasia
	FOXP3	IPEX
Antigen presentation, receptors, and signaling	Tap1, Tap2	Impaired MHC class I expression and $CD8^+$ T cell development
	RFXAP, CIITA, RFX5, RFXANK	Impaired MHC class II expression and $CD4^+$ T cell development
	Rag1, Rag2	SCID
	Artemis	SCID with radiosensitivity
	DNA ligase IV	SCID
	Nijmegen breakage syndrome	Immunodeficiency
	ATM	Ataxia-telangiectasia
	Igα, λ5, μ-chain	Agammaglobulinemia
	BLNK	Agammaglobulinemia
	Btk	X-linked agammaglobulinemia
	CD3γ, CD3ε,	T cell deficiency
	Lck	SCID
	Zap70	$CD8^+$ T cell deficiency
	CD45	SCID
	WASP	WAS
Accessory and adhesion molecules	CD18 (β2 integrin)	LAD I
	GDP-fucose transporter	LAD II
	SH2D1A	XLP
Metabolic	ADA	SCID
	PNP	CID

Dans Candotti et al. Journal of Clinical Investigation 2002 109;1261

Les déficits immunitaires secondaires (1)

- Malnutrition
  - La + commune: atteint particulièrement les lymphocytes T
    - Déficit en cellules T: thymus anormal, diminution du nombre des centres germinatifs, réaction d’hypersensibilité retardée abolie, prolifération lymphocytaire réduite, diminution des cellules T CD4+
    - Déficit en cellules B: cellules CD20+ diminuées et manque d’anticorps contre les antigènes T-dépendants
    - Phagocytose diminuée
    - Réversible après apport protéique

Les déficits immunitaires secondaires (2)

- Cancer
  - Lymphome Hodgkin --> déficit en cellules T
  - CLL --> déficit en cellules B
  - Myelome multiple --> réponse anticorps perturbée

Les déficits immunitaires secondaires (3)

- Infections
  - Bactériennes --> *Mycobacterium leprae*
  - Fongiques --> *Candida albicans*
  - Protozoaires --> *Plasmodium falciparum*
  - Virus
    - Rougeole
    - Herpes
      - Epstein-Barr virus (EBV)
      - Cytomegalovirus (CMV)
      - Herpes Simplex virus (HSV)
    - Grippe
    - VIH (virus de l’immunodéficience humaine)

Les déficits immunitaires secondaires (4)

- Les médicaments et autres traitements
  - Agent physique : irradiation
  - Agents chimiques
    - Corticosteroides --> bloque la migration lymphocytaire et le passage Go->G1 et G1->S
    - Cytotoxiques
      - Azathioprine --> analogue des purines (incorporation dans l'ADN --> bloque la division cellulaire)
      - Cyclophosphamide --> toxique à tous les stades (B>T)
    - Cyclosporine A et autres --> inhibe l'IL-2 via fixation à la cyclophiline --> complexe se fixe à la calcineurine --> inhibe NF-AT nécessaire à l'activation du gène IL-2
      - FK-506 --> essais cliniques
      - Rapamycin --> pas encore d'essais
  - Agents biologiques
    - ALG (antilymphocyte globuline)
    - Anti-CD3

Les modèles animaux (1)

- 80% --> souris (facilité d'élevage, séquence du génome, souches « inbred »)
  - Mutations spontanées (*xid, beige, scid, nude*…)
  - Souris « knock-out » --> ablation d'un gène par recombinaison homologue
- 20% -->rats, chiens, chevaux, et poulets

Les modèles animaux (2)

- Limites: mutations identiques aboutissent parfois à des phénotypes différents (ex: γc --> cellules B chez l'homme mais pas chez la souris $\gamma c^{-/-}$)
- Développement de souris mutantes tissu-spécifique et inductible

Modèles murins de la différenciation hématopoïétique humaine

- Les souris NOD x SCID --> modèle de différenciation des cellules B à partir de CSH CD34+

- Les souris $RAG^{-/-}$ x $\gamma c^{-/-}$ greffées avec des cellules souches humaines développent un système immunitaire T et B humain

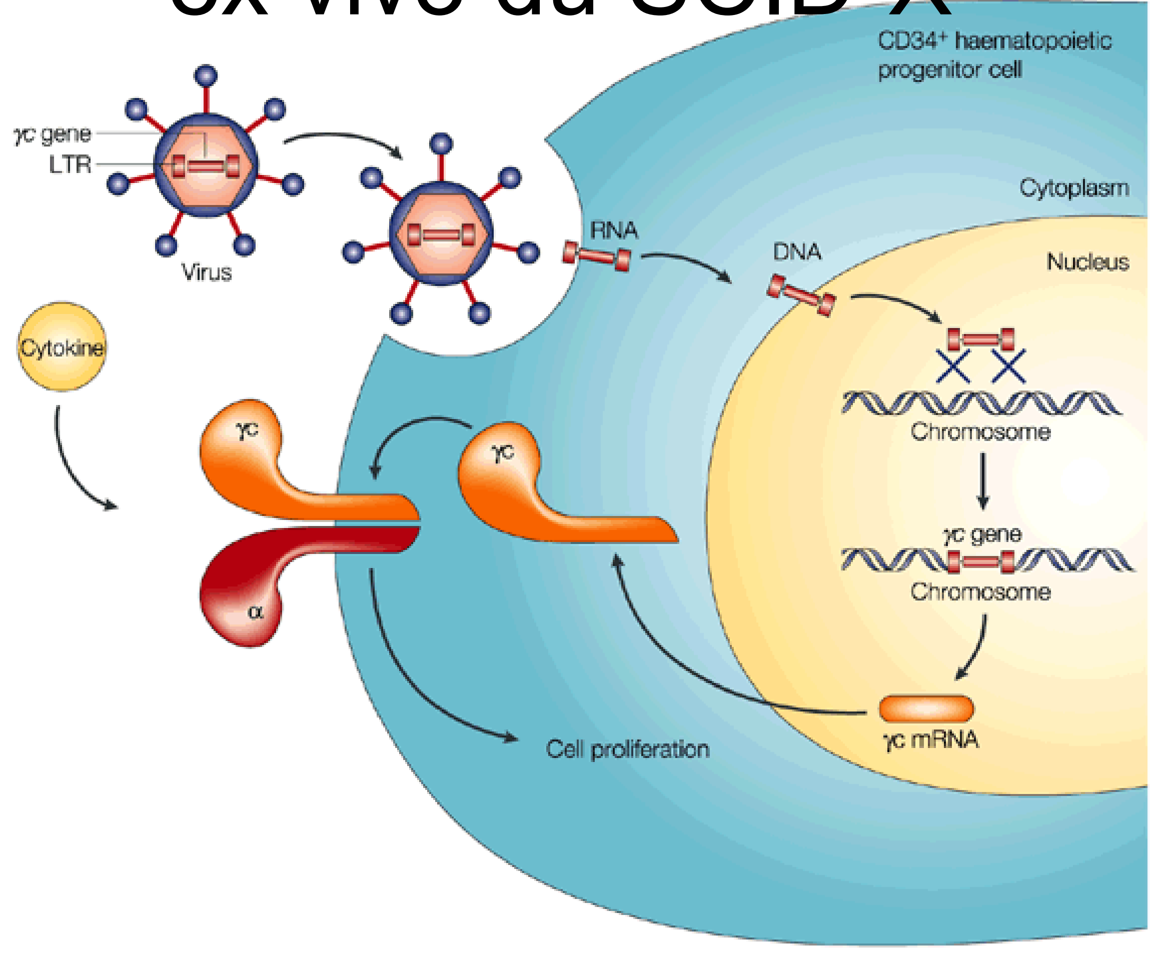
Traitements des SCID

- Transplantation de moelle osseuse
  - Pas de conditionnement
  - Greffe de donneur haplo-identique
  - Nécessité d'enlever les cellules T car sinon il y a réaction-du-greffon-contre-l'hôte (GVHD)
  - Survie: de 60 à 75% selon les centres
  - Restauration de la fonction B dans les SCID T^-B^- mais pas T^-B^+
- Thérapie génique

La thérapie génique

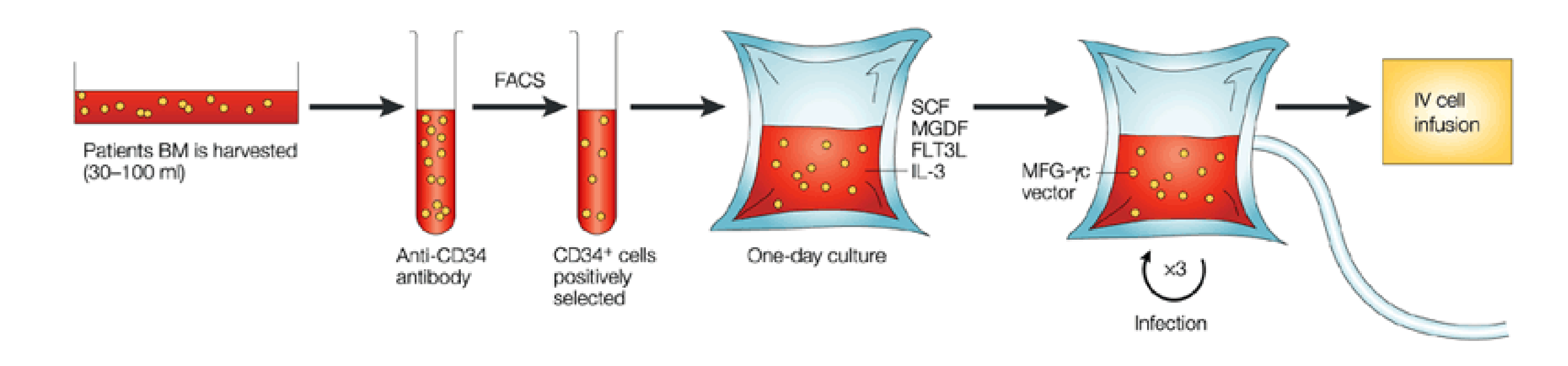
- Principe: introduction d'un gène fonctionnel pour pallier un déficit génétique entraînant une altération dans le développement ou le fonctionnement du système immunitaire
- Méthode de choix: vecteur rétroviral --> garantit une expression durable du transgène thérapeutique

Principe de la thérapie génique ex vivo du SCID-X



Dans Fischer et al 2002 2:615

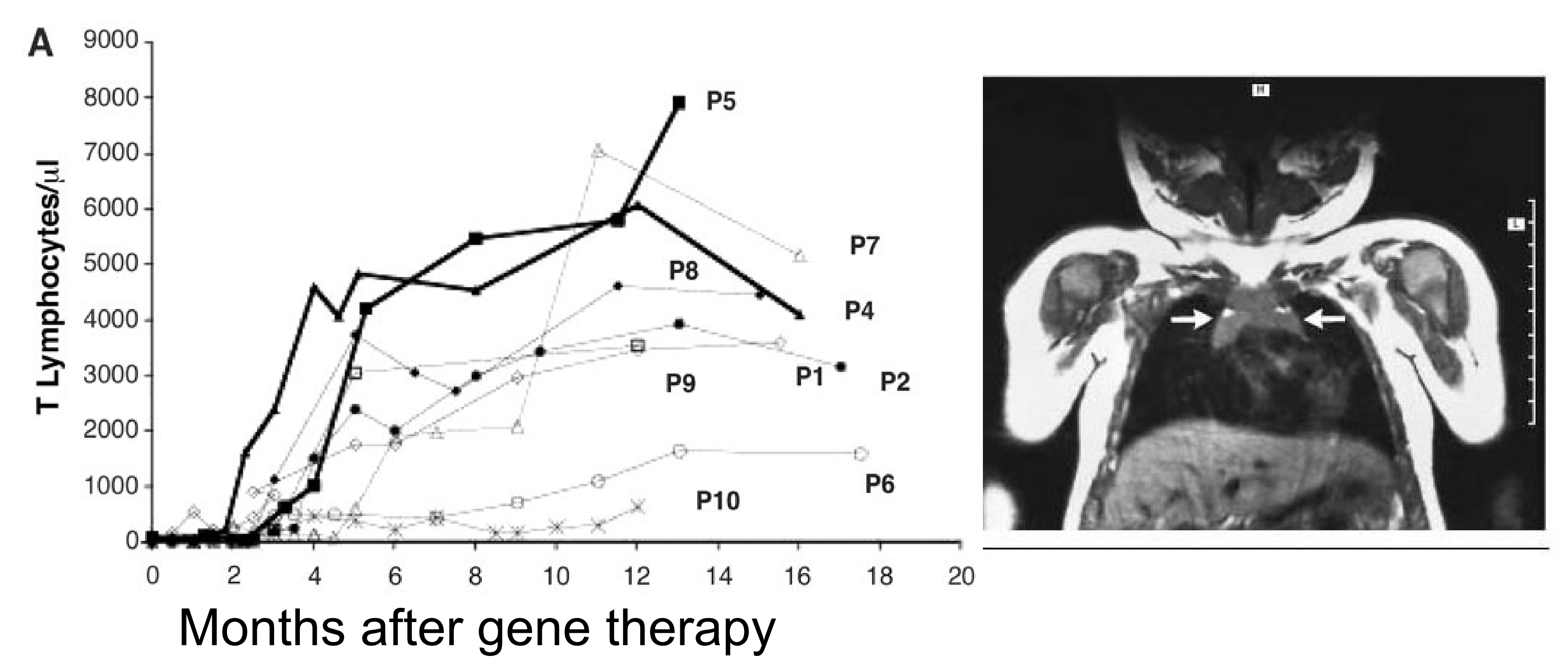
Schéma du protocole de transduction pour l'essai de thérapie génique du déficit SCID-X



Résultats

(Hacein-Bey et al. Science 2003 302: 415)

- 11 patients traités: 10 succès, 1 échec



Complications

• 30-34 mois après la thérapie génique, apparition d'une lymphocytose T chez deux patients (les plus jeunes et ayant reçu des doses de CD34+ parmi les plus élevées) + un autre patient (18/01/05)

• Insertion du vecteur dans le locus LMO-2 dans le premier intron en orientation inverse (Pt4) ou 3 kb avant le premier exon en orientation « forward » (Pt5)

• Insertion associée avec un taux élevé d'expression de LMO-2

• Ccl: mutagénèse transcriptionnelle du promoteur viral sur l'expression de LMO-2

• Hypothèse: agit par effet enhancer

•Plusieurs possibilités d'améliorations du protocole:

- –Ajout d'un gène suicide (TK-GCV)
- –Délétion du promoteur viral
- –Ajout d'insulateurs transcriptionnels
- –Changer le vecteur et le mode d'administration du gène thérapeutique

Conclusions

- La complexité des déficits immunitaires reflète la complexité du système immunitaire
- Les déficits immunitaires nous apprennent beaucoup sur le développement et la fonction du système immunitaire
- Représentent une situation idéale pour évaluer l'efficacité et la sécurité de la thérapie génique